

Use of collagen cross-linked with a cross-linking agent, for the manufacture of a biocompatible suturable membrane affording slow resorption, as well as such a membrane

Patent Number: FR2679778

Publication date: 1993-02-05

Inventor(s): ABDUL-MALAK NABIL; ALAIN HUC; JEAN FOURCART

Applicant(s):: COLETICA (FR)

Requested Patent: FR2679778

Application Number: FR19910009909 19910802

Priority Number (s): FR19910009909 19910802

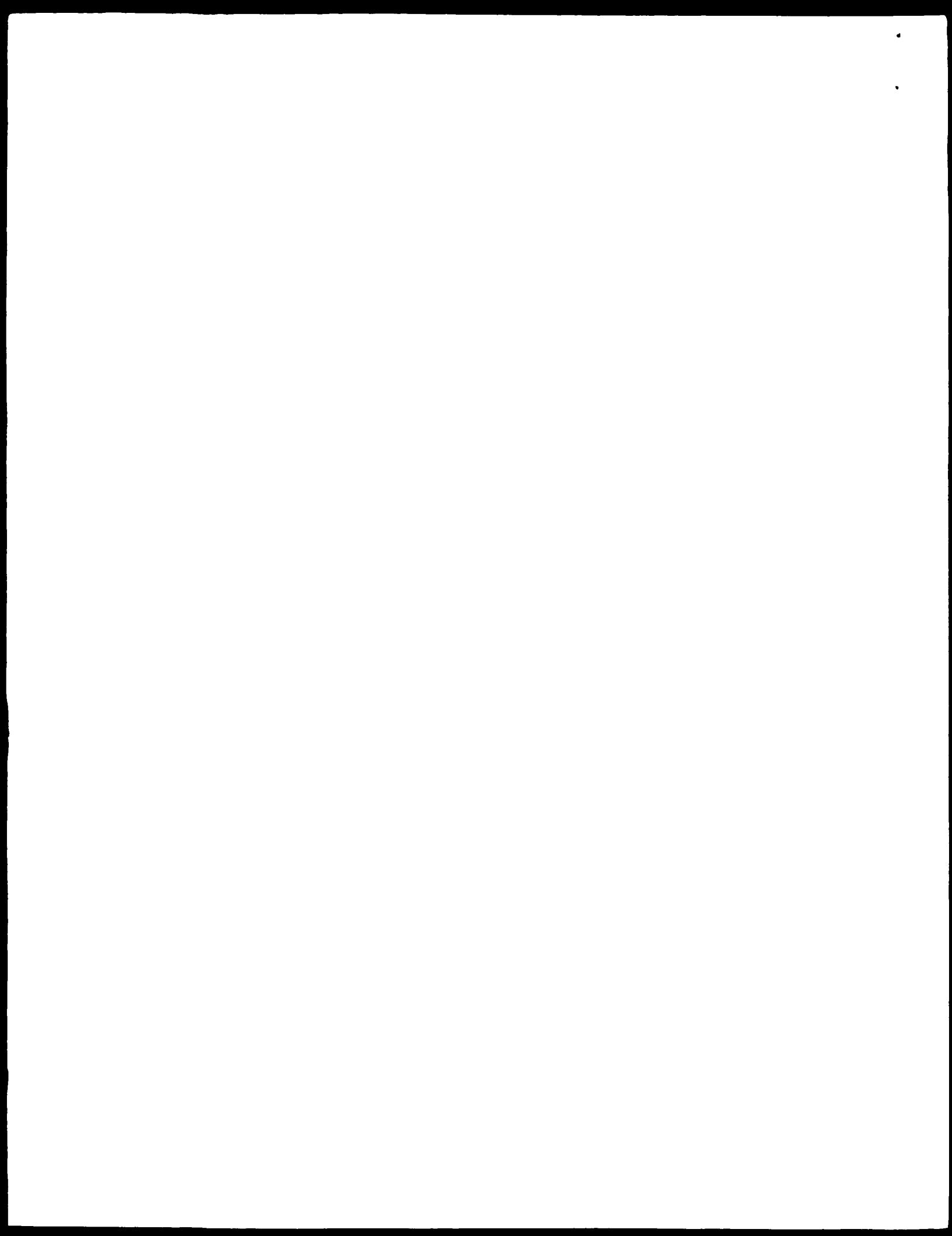
IPC Classification: A61L17/00 ; B01J13/00

EC Classification: A61L27/24, A61L31/04F2

Equivalents: AU2474592, AU660045, DE69227705D, DE69227705T, EP0641225 (WO9302718),
A1, B1, ES2127221T, FI940472, JP7509143T, WO9302718**Abstract**

The invention relates to the utilization of cross-linked collagen for the fabrication of a stitchable, biocompatible, slow resorption membrane. The collagen used, may be native collagen particularly of type I or type III, atelocollagen or a mixture of collagen or atelocollagen with glycosaminoglycan. Said membrane is stitchable, biocompatible and slow resorbing, thereby enabling its use for guided tissue regeneration.

Data supplied from the esp@cenet database - I2



(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :
(à utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 679 778

(21) N° d'enregistrement national :

91 09909

(51) Int Cl⁵ : A 61 L 17/00; B 01 J 13/00

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 02.08.91.

(71) Demandeur(s) : COLETICA Société Anonyme — FR.

(30) Priorité :

(72) Inventeur(s) : Nabil Abdul-Malak, Fourcart Jean et Huc Alain.

(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : 05.02.93 Bulletin 93/05.

(73) Titulaire(s) :

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche : Le rapport de recherche n'a pas été établi à la date de publication de la demande.

(74) Mandataire : Cabinet Beau de Loménie.

(54) Utilisation de collagène réticulé par un agent de réticulation pour la fabrication d'une membrane suturable, biocompatible, à résorption lente, ainsi qu'une telle membrane.

(57) L'invention concerne l'utilisation de collagène réticulé pour la fabrication d'une membrane suturable, biocompatible à résorption lente.

Comme collagène, il peut s'agir de collagène natif en particulier de type I ou de type III, d'atélocollagène ou un mélange de collagène ou d'atélocollagène avec un glycosaminoglycanne.

Cette membrane est suturable, biocompatible et à résorption lente, ce qui permet de l'utiliser pour réaliser une régénération tissulaire guidée.

FR 2 679 778 - A1



Utilisation de collagène réticulé par un agent de réticulation pour la fabrication d'une membrane suturable, biocompatible, à résorption lente, ainsi qu'une telle membrane.

05 L'invention concerne essentiellement l'utilisation de collagène réticulé par un agent de réticulation pour la fabrication d'une membrane suturable, biocompatible, à résorption lente, ainsi qu'une telle membrane. Une telle membrane peut être avantageusement utilisée pour la régénération tissulaire guidée.

10 Le concept de régénération tissulaire guidée a été récemment développé par Nieman et implique en pratique l'usage d'un matériau biocompatible capable de séparer *in vivo* deux populations cellulaires.

Le principe en est le suivant :

15 Lorsqu'un espace vide est ménagé au sein d'un tissu vivant, celui-ci est comblé par la lignée cellulaire adjacente à ce vide la plus rapide à se multiplier, sauf si l'accès est volontairement limité à un unique type cellulaire qui alors colonisera seul le vide à combler.

20 Ce principe est mis à profit dans la régénération tissulaire guidée pour orienter la réparation des tissus lésés dans le sens souhaité par le clinicien.

25 Ainsi, par exemple, dans le cas de la parodontologie, il est très difficile d'obtenir une réparation du tissu ligamentaire périradiculaire lorsque celui-ci a été lésé. En effet, lors des processus de cicatrisation du parodonte, l'épithélium se régénère plus rapidement que le ligament et il a tendance à prendre la place de celui-ci.

30 La technique de régénération tissulaire guidée utilisée dans ce cas consiste à isoler la zone normalement occupée par le ligament, de façon à la rendre inaccessible à l'épithélium. Cette opération peut être réalisée à l'aide d'un matériau biocompatible implanté dans les tissus. La description d'un tel matériau fait l'objet de la présente invention.

35 A ce jour, deux types de produits sont connus pour être utilisés dans le but de cette régénération tissulaire guidée.

On connaît tout d'abord les membranes de polytétrafluoroéthylène expansé commercialisées sous la marque Gore-Tex^R, qui ne sont pas résorbables. Elles ont l'avantage de demeurer intactes tout au long du temps de leur implantation et remplissent ainsi parfaitement le rôle de barrière qu'elles ont à jouer.

Toutefois, elles ne peuvent pas être laissées en place indéfiniment et elles nécessitent deux interventions chirurgicales, une première pour poser le matériau, une seconde six à huit semaines plus tard, pour le déposer une fois le phénomène de régénération initié.

D'autre part, les membranes résorbables composées de collagène ou d'autres polymères comme les polyglycolates ne nécessitant pas d'intervention d'ablation car elles sont éliminées par résorption.

Cependant, leur temps de résorption est relativement court et elles ne permettent pas dans tous les cas d'initier une régénération suffisante car elles demeurent intactes trop peu de temps.

La présente invention a donc pour but de fournir un nouveau matériau de membrane de régénération tissulaire guidée qui soit suturable, biocompatible et à résorption lente.

La présente invention a encore pour but de fournir un procédé particulier de fabrication du matériau de base de telles membranes.

La présente invention permet de résoudre ce problème technique pour la première fois, d'une manière simple, fiable, peu coûteuse, utilisable à l'échelle industrielle et médicale.

Ainsi, selon un premier aspect, la présente invention fournit une utilisation de collagène réticulé par un agent de réticulation pour la fabrication d'une membrane suturable, biocompatible à résorption lente.

Selon une variante de réalisation, le taux de réticulation est tel qu'il apparaît une augmentation d'au moins 15°C dans la température de dénaturation du collagène par rapport au collagène natif, et encore mieux d'au moins 20°C.

L'agent de réticulation peut être choisi parmi tout agent de réticulation de collagène connu. Il peut par exemple s'agir d'une aldéhyde comme une dialdéhyde, en particulier la glutaral-déhyde. Mais, de préférence, l'agent de réticulation est constitué par le diphenylphosphorylazide (en abrégé DPPA). Contrairement à la plupart des autres agents réticulants, le DPPA induit la réticulation et ne se fixe pas sur le matériau.

Le procédé de réticulation lui-même est bien connu à l'homme de l'art. Pour un procédé de réticulation au DPPA, on peut se reporter à une demande antérieure du déposant publiée sous le n° FR-A-2 645 870, qui est incorporée ici par référence.

Comme collagène, on peut utiliser du collagène natif, en particulier de type I ou de type III.

Selon une variante de réalisation particulière, on peut aussi utiliser de l'atélocollagène, bien que cela soit moins préféré.

Selon un autre mode de réalisation particulier, on utilise un mélange de collagène ou atélocollagène et de glycosaminoglycannes, ce mélange étant réticulé par l'agent de réticulation.

Selon une variante de réalisation particulièrement avantageuse de l'utilisation selon l'invention, on peut fabriquer une membrane mixte comprenant une couche de collagène réticulée et une couche de mélange collagène ou atélocollagène-glycosaminoglycannes, ces deux couches étant réticulées par l'agent de réticulation précité.

Selon une autre variante de réalisation avantageuse, la membrane précitée est réalisée poreuse en ayant ainsi l'aspect d'une éponge en ayant été préparée par une étape de lyophilisation d'un gel de départ.

Selon un deuxième aspect, la présente invention couvre également une membrane suturable, biocompatible à résorption lente, comprenant du collagène, caractérisée en ce qu'elle comprend du collagène réticulé par un agent de réticulation.

Selon une variante de réalisation, le taux de réticula-

- tion est prévu pour obtenir une augmentation d'au moins 15°C dans la température de dénaturation du collagène réticulé par rapport au collagène natif, encore mieux d'au moins 20°C. L'agent de réticulation préféré est le diphenylphosphorylazide, en abrégé DPPA.
- 05 Selon une variante de réalisation avantageuse, le collagène est un collagène natif de type I ou de type III.
- Selon une autre variante de réalisation, le collagène est de l'atélocollagène.
- 10 Selon une autre variante de réalisation, le collagène ou l'atélocollagène est mélangé à un glycosaminoglycanne avant réticulation de l'ensemble par l'agent de réticulation précité.
- Selon une autre variante de réalisation particulière de la membrane, celle-ci est poreuse notamment en ayant été préparée par une étape de lyophilisation à partir d'un gel de départ.
- 15 Selon une autre variante de réalisation, cette membrane comprend au moins deux couches, une première couche de collagène réticulé et une deuxième couche d'un mélange collagène ou atélocollagène-glycosaminoglycannes.
- Comme glycosaminoglycanne, dans le cadre de la présente invention, on peut utiliser avantageusement un glycosaminoglycanne de structure, en particulier l'acide hyaluronique, le chondroitine-4-sulfate, le chondroïtine-6-sulfate, le dermatane-sulfate, l'héparane-sulfate, le kératane-sulfate, l'héparine et ses dérivés, en particulier les héparines de bas poids moléculaire compris entre environ 2 000 et environ 10 000.
- 20 La proportion relative de glycosaminoglycanne relativement au collagène ou à l'atélocollagène est de préférence comprise entre 18 et 25 %.
- Le mélange du glycosaminoglycanne avec le collagène ou l'atélocollagène a lieu sous forme de solution. Par exemple, le glycosaminoglycanne est sous forme d'une solution aqueuse de glycosaminoglycanne contenant de 0,5 à 4 % en poids, plus particulièrement de 0,5 à 2 % en poids et encore de préférence environ 1 % de glycosaminoglycanne. De même, le collagène ou l'atélocollagène peut être sous forme d'une solution aqueuse ayant une concentration

entre 0,5 et 2 % en poids et encore de préférence environ 1 % en poids de collagène ou d'atélocollagène. La solution de collagène ou d'atélocollagène peut être préparée selon l'invention par dissolution de fibres de collagène ou d'atélocollagène dans une solution aqueuse légèrement acide. En particulier, il peut s'agir d'une solution aqueuse d'acide acétique 0,1 M.

On peut prévoir d'amener le mélange de collagène, ou d'atélocollagène, et de glycosaminoglycannes à un pH voisin de la neutralité et en particulier à un pH compris entre 6,5 et 8. On peut utiliser à cet effet une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.

Selon un troisième aspect, la présente invention concerne un procédé spécifique de préparation du collagène de départ.

Ce procédé comprend la préparation d'un gel de collagène caractérisé en ce qu'on réalise une coagulation de ce gel par un agent coagulant comprenant une solution ammoniacale ayant de préférence un effet déshydratant.

Selon un mode de réalisation avantageux de ce procédé de coagulation, la solution ammoniacale est une solution ammoniacale organique utilisant de l'acétone comme agent déshydratant. On observe en effet un effet de synergie par la combinaison acétone/ammoniaque pour la coagulation du gel et pour l'élimination de l'eau présente dans le gel.

On préfère une proportion relative acétone/ammoniaque comprise entre 50/50 et 80/20 en volume, une proportion volumique encore particulièrement préférée est 70/30 d'acétone/ammoniaque.

Selon une variante de réalisation avantageuse, lorsque les quantités de gel à coaguler sont relativement importantes, on réalise un renouvellement de la solution coagulante en cours de coagulation.

Selon une variante de réalisation particulière, le gel est coulé à travers une filière de section et de forme appropriée pour obtenir un gel coagulé de forme appropriée. Lorsque la section de la filière est rectangulaire, on obtient ainsi un film qui par la suite va constituer la membrane.

Le gel coagulé obtenu peut ensuite être soumis à une réticulation par l'agent de réticulation précité.

D'autres variantes de réalisation du procédé apparaissent également en relation avec les aspects précédents de l'invention.

05 En particulier, le collagène peut être du collagène natif, en particulier de type I ou de type III, ou encore être en pratique de l'atélocollagène, c'est-à-dire du collagène débarrassé de ses télopeptides. En outre, le collagène peut être mélangé avec un glycosaminoglycanne.

10 On comprend ainsi que l'invention permet d'aboutir à tous les avantages techniques déterminants précédemment énoncés ainsi qu'aux avantages techniques qui apparaîtront à l'homme de l'art à partir de la description explicative suivante de l'invention faite en référence à deux modes de réalisation actuellement préférés de l'invention donnés simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient donc en aucune façon limiter la portée de l'invention. 15 Dans les exemples, les pourcentages sont donnés en poids, sauf indication contraire.

20

Exemple 1

Préparation d'une membrane de collagène simple réticulée

A - Extraction du collagène natif et préparation du gel :

Un gel est préparé à partir de peaux de veaux préalablement lavées et épilées par un mélange de chaux-sulfure (chaux : 25 4 %, sulfure de sodium : 3 %).

Elle est ensuite déchaulée dans un bain contenant du chlorure d'ammonium (2 %) et du métalisulfite de sodium (0,5 %). Elle est ensuite neutralisée, puis les sels sont éliminés par deux lavages à l'eau. Elle est alors broyée, puis lavée par du tampon phosphate pH 7,8 (dihydrogénophosphate de potassium 0,78 g/l et monohydrogénophosphate disodique 21,7 g/l). Le phosphate est ensuite éliminé par deux lavages successifs à l'eau permutée.

Le broyat est alors acidifié par une solution d'acide acétique à 10 %, la quantité d'acide acétique étant de 5 % par rapport au collagène. Le broyat est alors malaxé afin d'obtenir une

pâte homogène. Cette pâte est ensuite diluée pour obtenir un gel ayant une concentration de 0,75 % en collagène natif.

B - Préparation du film

05 Le gel obtenu est dégazé sous vide puis coulé dans un bain coagulant à travers une filière rectangulaire dont la section a une hauteur de 0,5 mm. La solution coagulante est un mélange acétone/ammoniaque (V/V 70/30) qui est renouvelé tous les 250 ml de gel.

Le film obtenu est alors séché à l'air à température ambiante sur un support plastique en polytétrafluoroéthylène. Une fois sec, le film est aisément décollé de son support.

C - Réticulation du film

15 Le film est alors placé pendant 24 h à 4°C dans une solution de diméthylformamide (DMF) contenant 0,5 % de diphenylphosphorylazide (DPPA), la concentration étant exprimée en volume. Le DPPA est éliminé de la membrane par rinçage dans une solution de tampon borate pH 8,9 (tétraborate de sodium 0,04 M, acide borique 0,04 M).

La membrane est alors incubée pendant 15 h dans la solution tampon borate pH 8,9, puis rincée 5 fois à l'eau désionisée avant d'être placée dans une solution de glycérol à 10 %.

Elle est alors séchée à l'air et stérilisée par radiation γ à une dose de 25 kGy (kilogray). Les températures de début et de fin de dénaturation du collagène de cette membrane sont respectivement 64 et 80°C.

Exemple 2

Préparation d'une membrane mixte de collagène

glycosaminoglycane réticulé

A - Extraction du collagène natif et préparation du gel

Un gel est préparé à partir de peaux de veaux préalablement lavées et épilées par un mélange de chaux-sulfure (chaux : 4 %, sulfure de sodium : 3 %).

35 Elle est ensuite déchaulée dans un bain contenant du

chlorure d'ammonium (2 %) et du métalisulfite de sodium (0,5 %). Elle est ensuite neutralisée, puis les sels sont éliminés par deux lavages à l'eau. Elle est alors broyée, puis lavée par du tampon phosphate pH 7,8 (dihydrogénophosphate de potassium 0,78 g/l et monohydrogénophosphate disodique 21,7 g/l). Le phosphate est ensuite éliminé par deux lavages successifs à l'eau permutée.

Le broyat est alors acidifié par une solution d'acide acétique à 10 %, la quantité d'acide acétique étant de 5 % par rapport au collagène. Le broyat est alors malaxé afin d'obtenir une pâte homogène. Cette pâte est ensuite diluée pour obtenir un gel ayant une concentration de 0,75 % en collagène natif.

B - Préparation du chondroïtine-4-sulfate

Des cloisons nasales d'agneau débarrassées des tissus musculaires et adipeux sont hachées et broyées par extrusion à travers une grille comportant des trous de 4 mm ; le broyat est placé pendant 24 h à une température de 6°C dans un tampon de chlorure de potassium (11,8 g/L de KCL, 78,8 mg/l de cystéine, ETDA 180 mg/l) renfermant 1 % de papaine "MERCK". La proportion étant de 130 g de broyat pour 1 l de tampon.

Le surnageant est séparé du culot par centrifugation en continu à l'aide d'une décanteuse tournant à 4 000 tr/min. Au surnageant, sont alors ajoutés 40 g/l d'acide trichloracétique. Le précipité est éliminé par centrifugation en continu selon la technique précédente. Le surnageant est neutralisé à l'aide de soude en pastille. Le mélange est alors dialysé contre de l'eau désionisée et stérile à l'aide de boyaux dont le seuil de coupure est compris entre 6 000 et 8 000 daltons. La solution dialysée est lyophilisée. Le chondroïtine-4-sulfate est obtenu à l'état sec.

30

C - Préparation de l'éponge collagène chondroïtine-4-sulfate

A 1 l de gel à 0,75 % de collagène, sont ajoutés 1,87 g de chondroïtine-4-sulfate. Après neutralisation, le mélange est agité puis lyophilisé. L'éponge obtenue est pressée pendant 15 s sous une pression de 150 bars.

P - Préparation de la membrane mixte

Le gel de collagène à 1 % est coulé sur l'éponge comprimée à l'aide d'une filière dont la section a une hauteur de 0,3 cm. 10 ml de gel sont déposés sur 35 cm² d'éponge. La membrane ainsi réalisée est séchée à l'air libre.

E - Réticulation chimique de la membrane

La membrane séchée est incubée pendant 24 h à 4°C dans une solution de DMF contenant 0,5 % de DPPA, la concentration étant exprimée en volume. Le DPPA est éliminé de la membrane par rinçage dans une solution de tampon borate pH 8,9 (tétraborate de sodium 0,04 M, acide borique 0,04 M). La membrane est alors incubée pendant 15 h dans la solution tampon borate pH 8,9, puis rincée 5 fois à l'eau désionisée avant d'être placée dans une solution aqueuse de glycérol à 10 %.

La membrane est ensuite séchée à l'air et stérilisée par radiation γ à une dose de 25 kGy (kilogram). Les températures de début et de fin de dénaturation du collagène de cette membrane sont respectivement 60 et 85°C.

20 Les membranes selon l'invention peuvent être utilisées comme un matériau de régénération tissulaire guidé, de préférence en chirurgie dentaire pour réaliser par exemple le comblement des poches parodontales, le réhaussement des crêtes maxillo-mandibulaires, la régénération osseuse périimplantaire.

25 Les poches parodontales sont des pertes osseuses dentaires périradiculaires secondaires à une attaque bactérienne des tissus de soutien de la dent.

Elles sont caractérisées par une perte de la substance osseuse normalement présente autour de la racine de la dent et qui a pour mission de la soutenir sur la mâchoire.

Dans ce cas, pour utiliser la membrane de collagène, le praticien réalise un lambeau d'épaisseur totale pour exposer la lésion osseuse. Il applique la membrane sur l'os de façon à recouvrir complètement le défaut et à avoir un léger dépassement coronaire. Il referme enfin le lambeau en le suturant de façon à

laisser dépasser très légèrement la membrane dans le sulcus.

L'intervention peut être également réalisée avec l'emploi concomitant de biomatériaux et comblement osseux. Cette technique permet une réparation des tissus lésés en 4 à 8 mois.

05 L'édentation d'une zone buccale s'accompagne souvent de pertes osseuses importantes. Le chirurgien peut récupérer ces pertes en employant la membrane sur l'os de façon à recouvrir et déborder la perte, en prenant soin de donner à l'espace à reconstruire entre la membrane et l'os la forme souhaitée pour la reconstruction et au besoin de maintenir cette forme par l'emploi sous-jacent à la membrane d'un matériau compatible avec la repousse osseuse. Il referme enfin soigneusement le lambeau pour obtenir une reconstruction en 4 à 8 mois.

15 L'implantation chirurgicale de racines métalliques artificielles biocompatibles ou implants dentaires dans l'os des mâchoires édentées est une technique largement utilisée en chirurgie dentaire.

20 Il arrive souvent que ces implants soient posés dans des conditions qui ne leur permettent pas d'être en contact avec l'os sur toute leur surface radiculaire, cet os manquant à certains endroits.

Cette fois encore, l'emploi de membranes de collagène va permettre au chirurgien de réparer le défaut osseux contigu à l'implant.

25 Il lui suffira dans ce cas de recouvrir la zone osseuse où est posé l'implant avec une membrane, avant de refermer le lambeau levé en début d'intervention pour obtenir une parfaite ostéointégration de l'implant en 3 à 6 mois.

30 La présente invention couvre tous les moyens consistant en des équivalents techniques des moyens décrits ainsi que leurs diverses combinaisons.

35 Par ailleurs, l'invention couvre toute caractéristique qui apparaît être nouvelle relativement à un état de la technique quelconque, qui résulte de la description précédente prise dans son ensemble.

REVENDICATIONS

05 1. Utilisation de collagène réticulé par un agent de réticulation, pour la fabrication d'une membrane de régénération tissulaire guidée suturable, biocompatible à résorption lente.

10 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le collagène de départ est à l'état coagulé par suite d'une coagulation d'un gel de collagène par un agent coagulant.

15 3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'il s'agit de collagène natif, en particulier de type I ou de type III.

20 4. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'il s'agit d'atélocollagène.

25 5. Utilisation selon l'une des revendication 1 à 4, caractérisée en ce que le collagène, ou l'atélocollagène est mélangé à un glycosaminoglycanne.

30 6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que le taux de réticulation est prévu pour obtenir une augmentation d'au moins 15°C dans la température de dénaturation du collagène réticulé par rapport au collagène natif, et encore mieux d'au moins 20°C.

35 7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que l'agent de réticulation est le diphenylphosphorylazide, en abrégé DPPA.

8. Membrane de régénération tissulaire guidée suturable, biocompatible à résorption lente, comprenant du collagène, caractérisée en ce que le collagène est réticulé par un agent de réticulation.

9. Membrane selon la revendication 8, caractérisée en ce que le collagène est tel que défini à l'une des revendications 2 à 7.

10. Membrane selon la revendication 8 ou 9, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins deux couches, une première couche de collagène réticulé, et une deuxième couche d'un mélange de collagène ou d'atélocollagène et de glycosaminoglycanne réticulé.

11. Procédé de coagulation de collagène pour la préparation de collagène coagulé selon l'une des revendications 2 à 7, caractérisé en ce qu'on coagule un gel de collagène par un agent coagulant comprenant une solution ammoniacale, ayant de préférence un effet déshydratant.

05 12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que la solution ammoniacale est réalisée avec un solvant comprenant de l'acétone, à effet déshydratant.

10 13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que la proportion relative acétone/ammoniac, en volume, est comprise entre 50/50 et 80/20, de préférence d'environ 70/30.

15 14. Procédé selon l'une des revendications 11 à 13, caractérisé en ce que, lorsque les quantités de gel à coaguler sont trop importantes, on réalise un renouvellement de la solution coagulante en cours de coagulation.

15. Procédé selon l'une des revendications 11 à 14, caractérisé en ce que le gel est coulé à travers une filière de section et de forme appropriées, en particulier de section rectangulaire pour obtenir un film.

20

25

30

35

REPUBLIQUE FRANÇAISE

2679778

N° d'enregistrement
nationalINSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la rechercheFR 9109909
ES 408

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	WO-A-9 013 302 (BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL)(15-11-1990) * Page 5, lignes 3-8 *	1,8
Y	---	3-7, 9, 11-13
X	EP-A-0 331 786 (CHEMOKOL)(13-09-1989) * Colonne 7; exemple 7; revendications 1,7,8 *	1,8
Y	EP-A-0 052 288 (HEYL)(26-05-1982) * Revendications 1,4,14 *	3
Y	EP-A-0 187 014 (COLLAGEN)(09-07-1986) * Page 6, ligne 31; revendication 8 *	4
Y	US-A-4 280 954 (I.V. YANNAS)(28-07-1981) * Colonne 8, lignes 60-62; colonne 21, lignes 36-44; colonne 22, lignes 46-47 *	5,7
Y	WO-A-9 012 055 (BIOETICA)(18-10-1990) * Page 1, lignes 12-15; page 4, lignes 19-21; page 6; exemple 2; page 9; tableau I; revendications 9,12 (Cat. D) *	6,7,9
Y	EP-A-0 156 740 (CENTRE TECHNIQUE DU CUIR)(02-10-1985) * Revendication 1 *	11-13

DOMAINES TECHNIQUES
RECHERCHES (Int. CLS)

A 61 L

Date d'achèvement de la recherche
14-10-1992Examinateur
PELTRE CHR.

EPO FORM 1503.03.82 (1984)

CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
 Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
 A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général
 O : divulgation non écrite
 P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
 E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.

D : cité dans la demande
 L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant